

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari hingga April 2017 dan bertempat di *Greenhouse* Kebun Percobaan Universitas Muhammadiyah Malang, jalan Notojoyo, Tegal Gondo, Malang, Jawa Timur.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sekop kecil, polybag ukuran 35 x 35 cm, gembor, cetok, sprayer, gunting stek, timbangan analitik, gelas ukur, label, kamera, alat tulis, buku pendataan, oven dan alat pertanian.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman cincau hitam (*Mesona palustris* BL), tanah top soil, sekam, POC Nasa, ZPT IAA, air, fungisida, dan insektisida.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak kelompok (RAK) tipe kontras orthogonal yang disusun secara faktorial dengan dua faktor, yaitu: faktor pertama adalah konsentrasi Pupuk Organik Cair (POC) dengan kode (P), terdiri dari 3 taraf yaitu:

P1 = POC 7,5 ml/l air;

P2 = POC 10 ml /l air;

P3 = POC 12,5 ml/l air (Hanisar & Bahrum, 2014)

faktor kedua adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) IAA dengan kode (A), terdiri dari 3 taraf yaitu:

A1 = 10 ppm;

A2 = 20 ppm;

A3 = 30 ppm (Mahfudz, et al., 2006).

Sehingga diperoleh 9 kombinasi perlakuan dengan ulangan 3 kali dan sampel sebanyak 4 tanaman dengan 1 kontrol

Kombinasi Perlakuan

Kombinasi perlakuan yang didapatkan yakni:

P1A1	P2A3
P1A2	P3A1
P1A3	P3A2
P2A1	P3A3
P2A2	Kontrol

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan Media Tanam

Media yang digunakan adalah tanah top soil dan sekam. Pembuatan media tanam dengan cara mencampurkan 2 media tanam dengan susunan perbandingan tanah top soil dengan sekam = 1:1 setelah itu dimasukkan kedalam polibag berukuran 35 x 35 cm dengan berat 5 kg. Seperti pada Lampiran 8 gambar 1 – gambar 4.

3.4.2 Persiapan Bahan Tanam

Bahan tanam yang digunakan yakni stek batang tanaman cincau hitam (*Mesona palustris* BL). Tanaman cincau hitam didapatkan dari Bogor dan diadaptasikan dengan kondisi daerah Malang selama 3 minggu. Setelah itu tanaman cincau hitam di stek dengan ukuran 15 cm dari ujung batang. Kemudian bahan

tanam direndam fungisida selama 5 menit dan tahap selanjutnya direndam zat pengatur tumbuh *indole acetic acid* (IAA). Hal ini dilaksanakan seperti pada lampiran 8 gambar 6 – gambar 7

3.4.3 Perendaman ZPT (Zat Pengatur Tumbuh)

Perendaman ZPT (zat pengatur tumbuh) merupakan faktor kedua. Perendaman ZPT pada stek tanaman cincau hitam dengan 3 taraf, yakni A1= 10 ppm; A2= 20 ppm; A3= 30 ppm. Perendaman stek tanaman cincau hitam dibagi menjadi 3 sesuai dengan taraf yang telah ditentukan di rendam selama 30 menit.

3.4.4 Penanaman

Proses selanjutnya setelah penyiapan media tanam dan penyiapan bahan tanam yakni penanaman, pelaksanaan seperti pada lampiran 8 gambar 8 – gambar 11, proses penanaman sebagai berikut:

1. Menyusun polibag sesuai kombinasi perlakuan
2. Menanam stek pada media tanam yang telah tersedia dengan kedalaman tanam 5 cm
3. Menyiram stek yang telah selesai di tanam dengan air secukupnya
4. Membersihkan semua sisa bahan tanam ataupun media tanam dari sekitar area penanaman
5. Mengaplikasikan POC dengan konsentrasi yang telah ditentukan, yakni M0 = 0 ml/l, M1 = 7,5 ml/l, M2 = 10 ml/l dan M3 = 12,5 ml/l dengan cara disiramkan ke media tanam. Penyiraman POC ini dilakukan pada pagi hari dengan waktu setiap 1 minggu satu kali
6. Melakukan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3.4.5 Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman mulai dari penyiraman pada media tanam setiap 2 hari sekali, selain itu melakukan penyiangan gulma dan penanggulangan hama ulat pada tanaman. Penanggulangan hama ulat menggunakan insektisida dengan konsentrasi 1 ml / L dan disemprotkan pada seluruh bagian tanaman.

3.4.6 Parameter Pengamatan

Pengamatan dilakukan 2 minggu satu kali selama 12 minggu dengan parameter pengamatan sebagai berikut:

1. Saat Muncul Tunas

Saat muncul tunas dihitung ketika muncul tunas baru setelah penanaman stek, tunas yang dihitung adalah tunas yang muncul dari ketiak daun.

2. Jumlah Tunas

Jumlah tunas dihitung ketika tunas telah memiliki daun yang telah terbuka secara sempurna. Tunas yang dihitung merupakan tunas yang muncul dari setiap ketiak daun tanaman cincau hitam (*Mesona palustris* BL).

3. Panjang tunas

Panjang tunas diukur setelah tunas muncul dan diukur dari pangkal tunas hingga ujung tunas. Tunas yang diukur sebanyak 6 tunas pada setiap tanaman.

4. Jumlah daun

Jumlah daun dihitung secara keseluruhan daun dan daun yang telah terbuka secara sempurna.

5. Panjang Akar

Panjang akar diukur dari bagian pangkal akar hingga ujung akar dengan cara destruktif pada akhir pengamatan, cara pengukuran seperti pada lampiran 8 gambar 14.

6. Berat Basah Akar

Berat basah akar ditimbang dengan cara menimbang bagian akar secara keseluruhan. Cara pengukuran seperti pada lampiran 8 gambar 15.

7. Berat Kering Akar

Berat kering akar ditimbang dengan cara menimbang bagian akar yang telah dioven selama 3 hari dengan suhu 75°C hingga berat keringnya konstan. Cara penimbangan berat kering akar seperti pada lampiran 8 gambar 18.

8. Berat Basah Total Tanaman

Berat basah diukur dengan cara menimbang seluruh dari bagian tanaman tersebut dari daun hingga akar. Pengukuran berat basah total tanaman seperti pada lampiran 8 gambar 13.

9. Berat Kering Total Tanaman

Berat kering diukur dengan cara menimbang seluruh dari bagian tanaman cincau hitam yang telah dioven selama 3 hari dengan suhu 75°C hingga berat keringnya konstan. Cara pengukuran berat kering total tanaman seperti pada lampiran 8 gambar 17, yang sebelumnya di oven seperti pada lampiran 8 gambar 16.

10. Kandungan Klorofil Daun

Kandungan klorofil diamati pada umur 84 HST dengan menggunakan metode spektrofotometer, dengan tahapan yang dilakukan sebagai berikut :

- a. Menimbang daun cincau hitam sebanyak 1 mg
- b. Mengekstrak daun cincau dalam mortal martil dan dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% 100 ml
- c. Memasukkan larutan kedalam tabung reaksi dan divortex
- d. Memisahkan supernatan dengan menggunakan sentrifuge 1200 rpm selama 5 menit
- e. Memasukkan larutan kedalam cuvet dan dimasukkan kedalam spektrofotometer dengan $\lambda 649$ nm dan $\lambda 665$ nm
- f. Menghitung kandungan klorofil dengan rumus :

$$\text{Klorofil a} = 13,7 \lambda 665 - 5,76 \lambda 649 \text{ (mg/l)}$$

$$\text{Klorofil b} = 25,8 \lambda 649 - 7,60 \lambda 665 \text{ (mg/l)}$$

$$\text{Klorofil total} = 20,0 \lambda 649 + 6,10 \lambda 665 \text{ (mg/l)}$$
 Keterangan : λ = panjang gelombang

11. Efektivitas Antioksidan

Efektivitas antioksidan setelah berumur 84 HST dan diukur dengan cara menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), dan di analisa di laboratorium Ilmu Teknologi Pangan Universitas Muhammadiyah Malang.

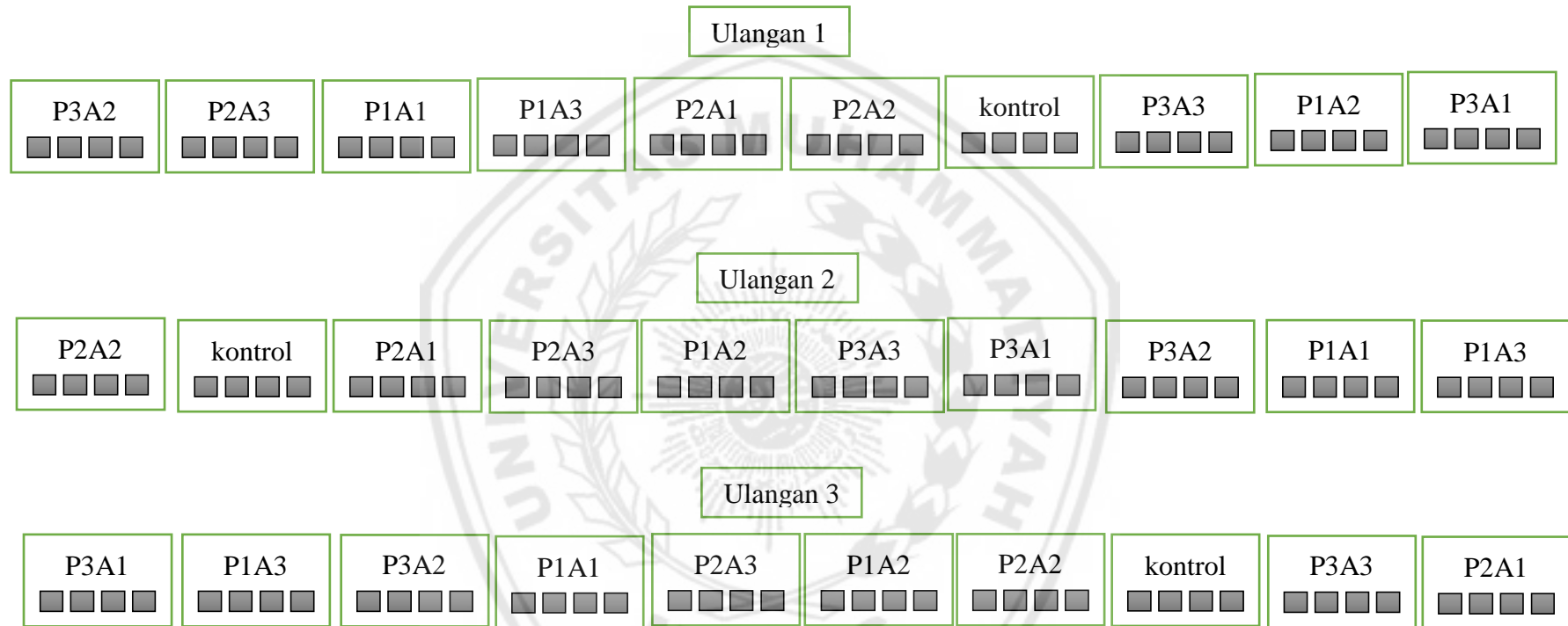
Tahapan yang dilakukan sebagai berikut (Farida & Vanoria, 2014):

- a. daun cincau digerus menjadi ekstrak 10 ml
- b. ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi
- c. menambahkan 2 ml larutan DPPH dan di vortex
- d. inkubasi selama 30 menit
- e. absorbansi dengan gelombang 517 nm

Selain pengamatan terhadap pertumbuhan dan antioksidan tanaman, juga dilakukan analisa terhadap kandungan kimia tanah.



3.4.7 Denah Percobaan



Keterangan : ■ = sampel tanaman

U
↑

3.4.8 Analisis Data

Pengolahan data dilakukan secara bertahap sesuai dengan tujuan dari penelitian. Data pengamatan dianalisis menggunakan uji F untuk mengetahui interaksi antar faktor dan pengaruh masing-masing faktor. Selain itu, menggunakan uji T untuk parameter pengamatan efektivitas antioksidan. Selanjutnya menggunakan uji BNJ taraf 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

